

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterização morfológica do
desenvolvimento placentário de *Calomys
callosus* (Rodentia, Cricetidae)**

Jean Ezequiel Limongi

Monografia apresentada à coordenação
do curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG

Abril-2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterização morfológica do
desenvolvimento placentário de *Calomys
callosus* (Rodentia, Cricetidae)**

Jean Ezequiel Limongi

Eloisa Amália Vieira Ferro
Orientadora

Monografia apresentada à coordenação
do curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG

Abril-2002

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais,

Francisco e Consolação, pelo incentivo e colaboração ao longo dos meus estudos.

Aos professores e funcionários do setor de Histologia,

pela ajuda e amizade durante o período de realização deste trabalho.

À Eloisa Amália Vieira Ferro,

Pelas orientações e incentivo durante esta fase de minha formação acadêmica.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterização morfológica do
desenvolvimento placentário de *Calomys
callosus* (Rodentia, Cricetidae)**

Jean Ezequiel Limongi

Aprovado(a) pela Banca Examinadora em 19/07/02 nota 10,0

Profª Drª Eloisa Amália Vieira Ferro
(Orientadora)

Profª Drª Paula Dechichi
(Examinadora)

Profª Drª Ana Alice Diniz dos Santos
(Examinadora)

Uberlândia, _____ de _____ de 2002.

Resumo

A placenta de *Calomys callosus* apresenta as regiões da decídua, espongiotrofoblasto, camada de células gigantes e zona do labirinto. Neste trabalho estudou-se a sequência do desenvolvimento da placenta de *Calomys callosus*, descrevendo as características ultraestruturais da barreira placentária (número de camadas, morfologia das camadas e espessura) entre 14 e 20 dias de gestação. *Calomys callosus* é um roedor de pequeno tamanho, encontrado no cerrado brasileiro, principalmente na região do estado de Goiás. Para este estudo foram utilizadas amostras de placentas entre 14 e 20 dias de gestação. As amostras foram fixadas e processadas para análise em microscopia de luz e microscopia eletrônica. À medida que progride a gestação a decídua torna-se mais delgada e ao final da gestação apresenta-se sob aspecto degenerado. A região do espongiotrofoblasto torna-se progressivamente menos espessa. A região do labirinto caracteriza-se pela presença de sangue materno e sangue fetal, ao contrário das demais regiões que só apresentam sangue materno. No labirinto o sangue fetal apresenta-se contido no interior do endotélio do mesênquima ao passo que o sangue materno encontra-se extravasado, banhando células trofoblásticas. Separando o sangue materno do sangue fetal encontram-se 3 camadas de células trofoblásticas (camadas I, II e III) e endotélio fetal. Estas camadas constituem a barreira placentária e à medida que progride a gestação estas camadas tornam-se progressivamente mais delgadas.

Palavras-chaves: Placenta, *Calomys callosus*, células trofoblásticas.

Sumário

1. <u>INTRODUÇÃO</u>	01
1.1. Implantação embrionária	02
1.2. Biologia do trofoblasto	03
1.3. Modificação e invasão do estroma endometrial	04
1.4. Placenta em roedores	05
1.5. <i>Calomys callosus</i>	08
2. <u>OBJETIVOS</u>	10
3. <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	11
3.1. Espécimes	11
3.2. Acasalamento	11
3.3. Coleta do material	11
3.4. Fixação e processamento do material para a microscopia de luz	11
3.5. Fixação e processamento do material para microscopia eletrônica	12
4. <u>RESULTADOS</u>	13
4.1. Décimo quarto dia de gestação	13
4.1.1. Microscopia de luz	13
4.1.2. Microscopia eletrônica de Transmissão	15
4.2. Décimo quinto dia de gestação	16
4.2.1. Microscopia de luz	16
4.2.2. Microscopia eletrônica de transmissão	17

4.3.	Décimo sexto dia de gestação	17
4.3.1.	Microscopia de luz	17
4.3.2.	Microscopia eletrônica de transmissão	18
4.4.	Décimo sétimo dia de gestação	19
4.4.1.	Microscopia de luz	19
4.4.2.	Microscopia eletrônica de transmissão	19
4.5.	Décimo oitavo dia de gestação	20
4.5.1.	Microscopia de luz	20
4.5.2.	Microscopia eletrônica de transmissão	21
4.6.	Décimo nono dia de gestação	21
4.6.1.	Microscopia de luz	21
4.6.2.	Microscopia eletrônica de transmissão	22
4.7.	Vigésimo dia de gestação	22
4.7.1.	Microscopia de luz	22
4.7.2.	Microscopia eletrônica de transmissão	23
5.	<u>DISCUSSÃO</u>	24
5.1.	Decídua	24
5.2.	Zona juncional	25
5.3.	Zona do labirinto	27
6.	<u>CONCLUSÕES</u>	32
	<u>DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA</u>	33
7.	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	46

1.Introdução

O sistema reprodutor feminino de mamíferos caracteriza-se por apresentar adaptações permissivas à fertilização interna. Posteriormente à fertilização, este sistema permite o desenvolvimento do ovo fertilizado no útero. No útero, através da placenta, desenvolvem-se inter-relações complexas entre os organismos materno e fetal, as quais garantem a nutrição, a respiração, a remoção de materiais residuais e a proteção ao feto. Além das importantes funções acima mencionadas, a placenta também é um órgão endócrino responsável pela produção de hormônios que garantem a continuidade da prenhez.

Entretanto, nem todos os mamíferos são placentados e possuem filhotes plenamente desenvolvidos. Assim, de acordo com a natureza das relações maternas e fetais distinguem-se diferentes subclasses de mamíferos tais como os prototérios ou monotremados, os metatérios e os eutérios. Os monotremados são ovíparos (ornitorrinco e eqüidna). Já nos mamíferos metatérios (marsupiais) forma-se uma placenta vitelínica transitória onde não há contato íntimo entre as membranas fetais e a mucosa uterina. Os demais mamíferos formam a subclasse dos eutérios, placentários verdadeiros, onde as membranas fetais e o endométrio contribuem para a formação de uma eficiente estrutura de trocas: a placenta (FERRO, 1991).

Para o estabelecimento da placenta, no entanto, existe um processo primordial que a antecede, universal para todos os mamíferos eutérios: Implantação embrionária (FERRO, 1991)

1.1 Implantação embrionária

No momento da implantação, em todos mamíferos eutérios, o embrião se encontra no estágio de blastocisto. Nesta fase, podem ser reconhecidas duas classes celulares: I. Massa celular interna ou embrioblasto, uma massa de células compactadas em um dos pólos do blastocisto; II. O trofoblasto, um conjunto de células que revestem a massa celular interna e a blastocele. Na implantação, independente da espécie estudada, são características pelo menos duas fases: aposição e adesão. A fase de aposição caracteriza-se pela aproximação gradativa entre embrião e organismo materno, até o contato de células trofoblásticas com células epiteliais uterinas (FERRO, 1991). Em ratos e camundongos, no início da implantação, existe um estreitamento do lúmen uterino, devido a mudanças fisiológicas no estroma endometrial, que aprisiona o blastocisto no interior da cripta uterina (ENDERS & SCHLAFKE, 1967)

Em macaco Rhesus, o blastocisto é que parece mediar a aproximação com o epitélio uterino, aumentando seu volume e preenchendo o lúmen uterino (HEDLUND *et al.*, 1972; ENDERS *et al.*, 1983). Nesta fase, no entanto, ainda não existe uma conexão firme entre os dois organismos, tanto que o embrião ainda pode ser deslocado por lavagem uterina.

Já na fase de adesão, estabelece-se um contato definitivo entre mãe e embrião, de tal modo que a sequência imediata é a fixação do embrião ao epitélio uterino (SCHLAFKE & ENDERS, 1975). Nesta fase, é observada grande proximidade entre as membranas das células trofoblásticas e das células epiteliais uterinas. Em ratos junções foram descritas entre estas células. Isto sugere que a capacidade do trofoblasto em formar junções com células epiteliais tem importante papel no processo de implantação, facilitando a penetração no

endométrio, sem deslocamento do blastocisto (ENDERS & SCHLAFKE, 1967).

Contudo, é necessário ressaltar que a implantação embrionária não envolve os mesmos mecanismos e nem tampouco acontece no mesmo momento nas diferentes espécies de mamíferos estudadas (FERRO, 1991).

1.2 Biologia do trofoblasto

As células trofoblásticas representam o elo de ligação entre organismo materno e embrionário. Estas são as únicas células embrionárias que entram em contato direto com células uterinas e apresentam funções primordiais e essenciais no processo de implantação e manutenção da prenhez.

O trofoblasto varia enormemente nas diferentes espécies, podendo ser sincicial, celular ou a combinação de ambos ou ainda perder sua individualidade através da fusão com células epiteliais uterinas. Pode ser invasivo, ativamente fagocitário e secretar hormônios protéicos ou esteróides (FERRO, 1991).

Em roedores, o trofoblasto que envolve o blastocisto durante o evento de implantação embrionária assume diferentes comportamentos dependendo de sua localização. O trofoblasto polar, que cobre a massa celular interna, parece ser o grande centro proliferativo, fornecedor das células trofoblásticas restantes (COPP, 1979). As células trofoblásticas polares dão origem ao cone ectoplacentário e ao ectoderma extra-embrionário, que contribuirão para a formação da porção fetal da placenta, após o processo de implantação ter-se instalado (ROSSANT & TAMURA-LIS, 1981; ROSSANT & CROY, 1985).

O trofoblasto mural, localizado nas paredes laterais do embrião e o trofoblasto abembrionário localizado no lado oposto da massa celular

interna, estão envolvidos com o processo de implantação embrionária. Estas células sofrem transformações gradativas e tornam-se células trofoblásticas gigantes, que apresentam como principal característica a aquisição de capacidade invasiva e fagocitária (ILGREN, 1983; BEVILACQUA & ABRAHAMSOHN, 1988; FERRO & BEVILACQUA, 1994).

As células trofoblásticas gigantes penetram no epitélio uterino e estroma endometrial, fagocitando ou deslocando células, com o objetivo final de alcançar e romper vasos sanguíneos endometriais. A partir deste momento, iniciam-se as trocas metabólicas entre organismo materno e embrionário, com intensa atividade fagocitária de elementos sanguíneos maternos no período em que a placenta ainda não foi estabelecida (BILLINGTON, 1971). Em roedores, a implantação do embrião é excêntrica, em uma cripta uterina antimesometrial e evolui rapidamente para uma posição intersticial, graças à ação invasiva do trofoblasto.

O estabelecimento da placenta em roedores envolve intensa atividade proliferativa e de diferenciação das células trofoblásticas, originando diferentes populações celulares (ENDERS & SCHLAFKE, 1967).

1.3. Modificação e invasão do estroma endometrial

O estroma endometrial sofre várias alterações que, em conjunto, são denominadas: reação decidual. Essas alterações se iniciam antes mesmo do processo de implantação acontecer e se processam com um aumento da permeabilidade vascular e formação de edema em torno da cripta uterina onde haverá a implantação (PSYCHOYOS, 1961). Em seguida, há transformação gradativa dos fibroblastos em células deciduais, e apesar da origem conjuntiva, assumem formas poliédricas e arranjo epitelióide (KREHBIEL, 1937).

Os fibroblastos apresentam como principais mudanças o aumento de volume, presença de depósitos de lipídeos e retículo endoplasmático e Complexo de Golgi proeminentes (ABRAHAMSOHN,

1983).

Segundo NALBANDOV (1971), em ratos e camundongos o processo de decidualização do endométrio e implantação do blastocisto requer a ação cooperativa dos hormônios progesterona e estrógeno. De fato, na maioria dos mamíferos eutérios, é demonstrado que estes hormônios não conseguem atuar de forma eficaz nestes processos de forma independente.

Em roedores, o processo de decidualização se inicia na região antimesometrial, local de implantação embrionária, e, posteriormente, atinge a região mesometrial, local de formação da placenta (FERRO, 1991).

Quanto ao grau de invasão do estroma endometrial pelas células trofoblásticas, existe uma variação de acordo com o tipo de placentação, sendo mais invasivas na placentação hemocorial, que ocorre em primatas e roedores. Porém, mesmo na placentação epiteliocorial, que ocorre em eqüinos, por exemplo, onde o embrião se desenvolve na cavidade uterina, ocorre alguma invasão do trofoblasto por entre as células epiteliais uterinas (FERRO, 1991).

A transformação do estroma endometrial em tecido decidual previne a invasividade exagerada do trofoblasto no tecido uterino (FERRO, 1991).

1.4. Placenta em roedores

Segundo RANGEL (1974), as placentas podem ser classificadas de acordo com o seu aspecto macroscópico e estruturas materno-embrionárias. Assim, as placentas podem ser classificadas: difusa e epiteliocorial, ocorrendo em suínos e equídeos; cotiledonária e sindesmocorial, em ruminantes; zonária e endoteliocorial em carnívoros; e discoidal e hemocorial, em primatas e roedores. Neste último tipo de placentação, o leito vascular uterino é invadido por células trofoblásticas, que passam a ser banhadas pelo sangue materno

lactogênio placentário (CAMPBELL *et al.*, 1989) e prolactina (CAMPBELL *et al.*, 1989; RASMUSSEN *et al.*, 1997).

Na interface materno-embrionária, as células gigantes da zona

juncional formam uma camada exclusiva de aspecto rendilhado. Estas células fazem contato com vasos decíduais. Células da zona juncional persistem até o final da gestação, apesar de haver neste período, um certo grau de degeneração de células gigantes e espongiotrofoblasto (JOLLIE, 1965).

1.5 *Calomys callosus*

A superfamília Muroidea abriga grande número de espécies de roedores que habitam todo o mundo. Incluídos nesta, temos as famílias Cricetidae, à qual pertencem os hamsters e *Calomys callosus*, e Muridae, que incluem os ratos e camundongos (FERRO, 1991).

Os ratos e camundongos são, com certeza as espécies mais bem estudadas em laboratório, porém *Calomys callosus* têm se mostrado bastante adaptável quando mantidos em cativeiro, tornando-se assim animais de utilização comum em laboratório.

Calomys callosus é um animal de pequeno tamanho, encontrado no cerrado brasileiro, principalmente na região do estado de Goiás (MELLO, 1981).

Sob condições de laboratório, tem sido estudado por vários autores (JUSTINES & JOHNSON, 1970; MELLO, 1978, 1981; PETER *et al.*, 1967) apresentando longevidade e reprodutividade satisfatórias para uso experimental. Estes cricetídeos constituem um reservatório natural de *Trypanosoma cruzi* (RIBEIRO, 1973), o agente etiológico da doença de Chagas e são transmissores da febre hemorrágica argentina (JUSTINES & JOHNSON, 1969; JOHNSON *et al.*, 1965). Estes animais também têm se mostrado altamente susceptíveis a doenças infecciosas e parasitárias como esquistossomose, leishmaniose (MELLO, 1977) e toxoplasmose (FAVORETO *et al.*, 1998; FERRO *et al.*, 1999), o que proporciona um excelente modelo biológico para estudo destas doenças. *Calomys callosus* possui tempo de vida média de 715 e 822 dias para fêmeas e machos, respectivamente (MELLO, 1981).

Do ponto de vista reprodutivo, trata-se de animais poliétricos, com ciclo estral de aproximadamente 6 dias e período gestacional de 22 dias (MELLO, 1978). O número de cópulas férteis correspondem em média 75%, com um tamanho médio de ninhada de 5 filhotes (MELLO, 1978,1981). A maturidade sexual é atingida em machos e fêmeas, em aproximadamente 20 e 40 dias, respectivamente, após o nascimento (MELLO, 1978). Apesar de haver alguns estudos sobre aspectos reprodutivos destes animais (MELLO, 1978; 1981; FERRO & BEVILACQUA, 1994; FERRO *et al.*, 1999), não há estudos que enfoquem o desenvolvimento cronológico e o estabelecimento definitivo da placenta nestes animais.

2. Objetivos

Neste estudo serão analisadas placentas de *Calomys callosus* entre 14 e 20 dias de gestação, com o objetivo de:

- Analisar o desenvolvimento da decídua, zona juncional e zona do labirinto do 14º ao 20º dia de gestação.
- Descrever o número de camadas trofoblásticas da barreira placentária e suas características ultraestruturais.
- Verificar a variação em espessura da barreira placentária e de suas camadas individuais.

3. Material e métodos

3.1 Espécimes

Calomys callosus foram cedidos pelo biotério do laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Uberlândia e foram utilizados ao atingirem a idade de três meses. Os animais foram mantidos no biotério com dieta *ad libitum* de água e ração granulada complementada com semente de girassol, aveia e milho.

3.2 Acasalamento

O acasalamento foi feito em gaiolas contendo 2 fêmeas para cada macho. A constatação do acasalamento deu-se através da rolha vaginal. A presença de rolha vaginal caracteriza o primeiro dia de gestação.

3.3 Coleta do material

Os animais foram anestesiados por inalação de éter. Após laparotomia, os cornos uterinos foram retirados e mantidos em placa de Petri contendo solução fixadora, onde foram dissecadas as placentas e recortadas em fatias para a microscopia de luz e para a microscopia eletrônica do 14^o ao 20^o dia de gestação.

3.4 Fixação e processamento do material para a microscopia de luz

Os cortes de placenta foram mantidos em solução fixadora Formol 10 % em tampão fosfato 0,1 M pH 7,2 durante 24 hs e em seguida

desidratados em uma série de etanóis em concentrações crescentes (50 a 100%). Em seguida foram incluídos em glicol metacrilato (Historesin, LKB, Bromma, Suécia). Posteriormente foram obtidos cortes de 2 μ m de espessura. Os cortes foram corados pelo azul de Toluidina a 0,25% em água destilada a 40 °C. A documentação fotográfica foi realizada em um fotomicroscópio REICHERT-JUNG POLYVAR.

3.5 Fixação e processamento do material para microscopia eletrônica de transmissão

Os cortes de placenta foram mantidos em solução fixadora Glutaraldeído 2,5%, 0,05 M de sacarose em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4 durante 24 hs. Uma vez fixados os fragmentos foram lavados em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4 e pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato 0,1 M durante 1 hora. Após lavagens em tampão fosfato, os fragmentos foram então submetidos a uma bateria de desidratação em etanóis de concentrações crescentes (50-100%), sendo então infiltrados por óxido-propileno. Posteriormente, os fragmentos permaneceram durante doze horas, numa mistura de partes iguais de óxido-propileno e resina Epon, após o que, foram mantidos por 1 hora em resina pura a 60 °C e então incluídos em uma nova resina pura e orientados de modo a obtermos cortes transversais da placenta. Para polimerização da resina, os blocos permaneceram em estufa a 60 °C durante 72 horas. Os cortes ultrafinos foram obtidos em um ultramicrotomo REICHERT-JUNG. Estes cortes foram contrastados pelo acetato de uranila 2% em água destilada durante 30 minutos e pelo citrato de chumbo 0,5% em água destilada, durante 40 minutos. A observação ultra-estrutural e a documentação fotográfica foram realizadas em um microscópio eletrônico ZEISS 109.

4. Resultados

Os resultados aqui apresentados têm como objetivo descrever a estrutura placentária de *Calomys callosus* e analisar as modificações histológicas sofridas pelo órgão do 14^o ao 20^o dia de gestação.

De modo geral, a placenta de roedores pode ser dividida em três partes; a decídua, parte materna da placenta; e as zonas juncional e do labirinto, que formam a porção fetal da placenta.

O suprimento sanguíneo da placenta de roedores difere sobremaneira de acordo com a região analisada. Assim, a decídua e a zona juncional, recebem exclusivamente sangue materno, enquanto que a zona do labirinto, recebe, além de sangue materno, sangue fetal contido no interior de vasos fetais no mesênquima (Fig. 1)

4.1. Décimo quarto dia de gestação

4.1.1 Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, a placenta de *Calomys callosus* apresentou-se constituída de células decíduais, células trofoblásticas gigantes, espongiotrofoblasto e células do labirinto. As células decíduais caracterizavam-se por serem globosas, com núcleos esféricos, cromatina frouxa e nucléolos evidentes. A decídua apresentava-se relativamente espessa e intensamente corada. Interpostas entre células decíduais apareciam as células granulosas metriais, caracterizadas pelo citoplasma repleto de granulações, núcleo excêntrico de cromatina frouxa e nucléolo evidente. Tais células, aparentemente, não estabeleciam junções com células adjacentes e frequentemente se dispunham circundando vasos sanguíneos maternos (Fig. 2A).

A zona juncional apresentava-se constituída por células trofoblásticas gigantes e espongiotrofoblasto (Fig. 2B).

As células trofoblásticas gigantes apresentavam núcleos de grandes dimensões com os constituintes nucleares nítidos (cromatina e nucléolo). A cromatina era predominantemente frouxa e os nucléolos, em dois ou três, evidentes. Nestas células, pontos claros semelhantes a vesículas foram frequentemente observados na periferia citoplasmática (Fig. 2B).

Células de um arranjo típico com projeções citoplasmáticas que se estruturavam na forma de celas, semelhantes à de uma esponja, formavam o espongiotrofoblasto. As células do espongiotrofoblasto apresentavam núcleos pequenos, de cromatina frouxa e dois ou mais nucléolos evidentes. Tais células dispunham-se em grupos que sempre eram circundados por células trofoblásticas gigantes (Fig. 2B).

A zona do labirinto mostrava-se constituída por trabéculas relativamente espessas, ramificadas e anastomosadas entre si, limitando espaços ocupados por sangue materno extravasado. Esta região, ao contrário das anteriores, também recebia sangue fetal, contido no interior de vasos fetais do mesênquima (Fig. 2C). Nas trabéculas, distinguam-se três tipos nucleares diferentes:

Núcleos grandes, arredondados, de cromatina frouxa e dois ou três nucléolos evidentes.

Núcleos pequenos, ovalados, de cromatina frouxa e dois nucléolos evidentes.

Núcleos diminutos, fusiformes, com grumos de cromatina condensada e um ou dois nucléolos evidentes.

Hemácias fetais nucleadas foram observadas com frequência no interior das trabéculas labirínticas (Fig. 2C).

A zona do labirinto mostrava-se apoiada em uma membrana basal delgada, a Membrana de Reichert, a qual estava intimamente aderida ao endoderma parietal, formando a placa coriônica (Fig. 2C).

4.1.2 Microscopia eletrônica de transmissão*

Em microscopia eletrônica, as trabéculas labirínticas mostravam-se constituídas por três camadas trofoblásticas mais endotélio fetal. A camada trofoblástica em contato direto com o sangue materno, a camada I, apresentava projeções filiformes em toda a superfície de membrana. Esta, era a mais fina das camadas e mantinha um contato descontínuo com a camada subjacente através de projeções bulbosas ou filiformes (Fig. 3A).

A camada trofoblástica intermediária, a camada II, era a mais espessa das três camadas. Inclusões lipídicas e polissomos livres eram abundantes nesta camada, bem como vesículas de endocitose (Fig. 3A). Ao contrário da superfície de contato com a camada I, a que se relacionava com a camada III, era bem mais regular.

A camada III era espessa e com grânulos de glicogênio no citoplasma. Vesículas de endocitose não eram observadas nesta camada. A lâmina basal trofoblástica aderiu-se à lâmina basal do endotélio fetal. Este, era do tipo fenestrado e apresentava características morfológicas típicas (Figs. 3A e 3B). Hemácias fetais volumosas, de núcleo predominantemente heterocromático, estavam sempre contidas por endotélio fetal (Fig. 3B)

* Os resultados obtidos a partir dos estudos ultraestruturais enfocam apenas as estruturas placentárias contidas na zona do labirinto.

4.2. Décimo quinto dia de gestação

4.2.1. Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, as células decíduais mantiveram as mesmas características morfológicas do dia anterior, apresentando citoplasma intensamente corado e núcleo com cromatina frouxa e nucléolos evidentes. Interpostas entre as células decíduais apareciam as células granulosas metriais descritas anteriormente, que apresentavam morfologia semelhante à do dia anterior, e conservavam também a disposição perivascular característica (Fig. 4A).

A zona juncional apresentava-se constituída por células trofoblásticas gigantes e pelo espongiotrofoblasto. As células trofoblásticas gigantes apresentavam citoplasma moderadamente corado, núcleo com cromatina frouxa e nucléolos, de três a quatro, evidentes. Algumas destas células exibiam granulações citoplasmáticas (Fig. 4B).

O espongiotrofoblasto caracterizava-se pelas formações esponjosas, que se destacavam pela maior intensidade cromática. Esta camada encontrava-se circundada por células trofoblásticas gigantes (Fig. 4B).

A zona do labirinto, em microscopia de luz, apresentava morfologia semelhante à do dia anterior, conservando também os mesmos padrões morfológicos nucleares (Fig. 4C).

As trabéculas citoplasmáticas coravam-se moderadamente, apresentando, no entanto, pontos claros na periferia citoplasmática, que conferiam a esta região um aspecto vesiculoso (Fig. 4C).

Hemácias fetais nucleadas eram ainda comuns nesta fase do desenvolvimento placentário (Fig. 4C).

4.2.2. Microscopia eletrônica de transmissão

Nas trabéculas labirínticas, vesículas de macropinocitose eram observadas na camada I, a qual mantinha o mesmo padrão morfológico do dia anterior (Fig. 5A).

Na camada II, grânulos de glicogênio, polissomos livres e inclusões lipídicas eram freqüentes. Esta camada era a mais espessa, no entanto, em locais onde não eram observadas inclusões lipídicas, sua espessura era sensivelmente menor (Fig. 5B).

A camada III apresentava projeções bulbosas na interface com a camada II e também próximas à lâmina basal. Nesta camada, não se observava grande variação em espessura ao longo das trabéculas (Fig. 5B).

O endotélio fetal aderiu-se intimamente às camadas trofoblásticas por meio de sua lâmina basal que se fundia à lâmina basal da camada III.

As hemácias fetais observadas eram grandes e possuíam núcleos predominantemente heterocromáticos (Fig. 5B).

4.3. Décimo sexto dia de gestação

4.3.1 Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, as células decíduais conservavam o mesmo aspecto dos dias anteriores, caracterizado por um arranjo compactado das células, que eram globosas, fortemente coradas, com núcleos de cromatina frouxa e nucléolos, geralmente em dois, evidentes. Interpostas entre células decíduais, as células granulosas metriais, descritas anteriormente, ainda eram freqüentes nesta fase do desenvolvimento placentário (Fig. 6A).

A zona juncional mostrava-se constituída por células gigantes e por células do espongiotrofoblasto. As células trofoblásticas gigantes eram abundantes e de grande dimensões. Estas células estavam presentes limitando o espongiotrofoblasto e na interface com a zona do

labirinto (Fig. 6B).

O espongiotrofoblasto caracterizava-se por grupos de células, com arranjo semelhante à esponja e núcleos claros com dois ou mais nucléolos evidentes (Fig. 6C).

Na zona do labirinto, as trabéculas celulares eram visivelmente adelgaçadas e os espaços ocupados por sangue materno eram mais amplos em relação ao dia anterior. Os mesmos padrões morfológicos de núcleos do dia anterior foram aqui observados (Fig. 6D).

Hemácias fetais nucleadas eram ainda frequentes nesta fase do desenvolvimento placentário, porém, hemácias aparentemente anucleadas também eram observadas (Fig. 6D).

4.3.2. Microscopia eletrônica de transmissão

Em microscopia eletrônica, as trabéculas labirínticas apresentavam regiões espessadas, onde as três camadas eram desenvolvidas, porém, em outras regiões, a barreira placentária mostrava-se sensivelmente menor do que do dia anterior (Fig. 7A).

As hemácias fetais eram maiores do que as hemácias maternas e apresentavam núcleo, em geral, excêntrico (Fig. 7A).

A camada trofoblástica I era delgada e apresentava protruções citoplasmáticas em contato com o sangue materno. Células de núcleo eucromático e retículo endoplasmático rugoso desenvolvido eram observadas nesta camada (Fig. 7B).

A camada II, de aspecto morfológico similar ao já descrito anteriormente, era a mais espessa das camadas (Fig. 7B).

A camada III apresentava-se regular, com poucas projeções em sua superfície de membrana.

Encerrando a zona do labirinto, a placa coriônica mostrava-se constituída por uma espessa membrana basal, além de células do endoderma parietal (Fig. 7C).

4.4. Décimo sétimo dia de gestação

4.4.1 Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, as células decíduais não apresentavam mudanças morfológicas aparentes em relação ao dia anterior.

A zona juncional apresentava-se constituída por células trofoblásticas gigantes e pelo espongiotrofoblasto. As células trofoblásticas gigantes eram evidentes. Os grupos de células do espongiotrofoblasto restringia-se a uma estreita faixa entre a decídua e a zona do labirinto (Fig. 8A)

A zona do labirinto, nesta fase da gestação, era visivelmente maior do que no dia anterior. Morfologicamente, no entanto, não apresentava alterações evidentes (Figs. 8A e 8B).

Hemácias fetais globosas e aparentemente anucleadas eram comuns nesta fase do desenvolvimento placentário (Fig. 8B).

4.4.2. Microscopia eletrônica de transmissão

Ao microscópio eletrônico, as trabéculas labirínticas apresentavam espessura variável de acordo com a região analisada. A camada I era, em geral, a mais fina das camadas, e caracterizava-se pelas projeções filiformes mergulhadas em sangue materno e pelo contato descontínuo com a camada II, com a qual estabelecia junções através de desmosomos. Na superfície desta camada, vesículas de macropinocitose e numerosas fenestrações eram freqüentemente observadas (Fig. 9A). Células da camada I apresentavam elementos em seu citoplasma que lembravam elementos sanguíneos maternos (Fig. 9B).

A camada II era a que apresentava maior variação em espessura, sendo espessa nas regiões com inclusões lipídicas e consideravelmente fina no restante da camada. Vesículas de endocitose eram freqüentemente observadas na superfície desta camada. A superfície de contato com a camada III era regular e

marcada por numerosas junções intercelulares (Fig. 9B).

A camada III ora apresentava-se como uma camada contínua, onde amplas regiões citoplasmáticas eram observadas ou apresentava-se apenas como projeções citoplasmáticas (Fig. 9B).

No interior dos capilares fetais, além de hemácias anucleadas, observavam-se outras células da linhagem eritrocítica com núcleos excêntricos e heterocromáticos (Fig. 9C).

4.5. Décimo oitavo dia de gestação

4.5.1 Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, a decídua era constituída por apenas poucas camadas de células de aspecto amorfo e atípico. Entre as células deciduais apareciam amplos espaços intercelulares (Fig. 10A).

A zona juncional apresentava-se constituída por células trofoblásticas gigantes e espongiotrofoblasto. As células trofoblásticas gigantes eram freqüentes principalmente na interface com a zona do labirinto. Os grupos de células do espongiotrofoblasto ainda eram evidentes, porém, constituíam apenas uma pequena porção da placenta (Fig.10B). A zona juncional ocupava a menor área da placenta, que, neste momento da gestação, era representado principalmente pela zona do labirinto (Fig. 10B).

A zona do labirinto, nesta fase da gestação, apresentava-se amplamente desenvolvida. As trabéculas labirínticas formavam espaços anastomosados entre si, que recebiam abundante suprimento sanguíneo materno. Núcleos grandes e de cromatina frouxa eram freqüentes nesta região. Além destes, numerosos núcleos diminutos se dispunham ao longo das trabéculas (Fig. 10B).

4.5.2. Microscopia eletrônica de transmissão

A camada I caracterizava-se por ser extremamente delgada, com protrusões citoplasmáticas mergulhadas em sangue materno (Fig.10C).

A camada II conservava as inclusões lipídicas, polissomos livres, grânulos de glicogênio e vesículas de endocitose no citoplasma (Fig. 10C).

A camada III apresentava-se justaposta à camada II, unidas por numerosas junções intercelulares. Nesta camada, projeções bulbosas eram comuns, principalmente próximas à lâmina basal (Fig. 10D).

Nesta fase do desenvolvimento placentário, as hemácias fetais eram predominantemente anucleadas (Fig. 10D).

4.6. Décimo nono dia de gestação

4.6.1. Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, a decídua restringia-se a uma estreita faixa entre o miométrio e a zona juncional. As células decíduais apresentavam espaços interpostos entre elas, praticamente em toda a extensão decidual (Fig. 11A).

A zona juncional, ao microscópio de luz, mantinha as mesmas características morfológicas do dia anterior, as células trofoblásticas gigantes, entretanto, eram menos frequentes (Fig. 11A).

Na zona do labirinto, em microscopia de luz, as trabéculas labirínticas próximas à placa coriônica, apresentavam-se mais delgadas do que nas demais áreas desta zona da placenta (Fig. 11B). Exceto isto, as células da zona do labirinto mantiveram o mesmo padrão morfológico descrito anteriormente.

4.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão

Ao microscópio eletrônico, as trabéculas labirínticas não demonstravam alterações morfológicas evidentes em relação ao dia anterior.

Na camada I, a mais delgada, as vesículas de macropinocitose eram frequentes. Além disso, numerosas fenestrações estavam presentes entre as células (Figs. 11C e 11D).

A camada II caracterizava-se pelas vesículas de endocitose em todo o seu citoplasma. Esta camada era a que mais variava em espessura ao longo das trabéculas, e em geral, era a mais espessa das três camadas (Figs. 11C e 11D).

A camada III não demonstrava nenhuma alteração morfológica evidente, conservando as projeções citoplasmáticas próximas à lâmina basal (Fig. 11C).

As hemácias fetais mantiveram o mesmo aspecto do dia anterior (Fig. 11D).

4.7. Vigésimo dia de gestação

4.7.1. Microscopia de luz

Nesta fase da gestação, a decídua apresentava-se constituída por poucas camadas de células. Algumas células granulosas metriais encontravam-se esparsas nesta região (Fig. 12A).

A zona juncional apresentava-se constituída por células trofoblásticas gigantes e pelo espongiotrofoblasto. As células trofoblásticas gigantes eram menos numerosas do que em dias anteriores. O espongiotrofoblasto não apresentava um aspecto íntegro, não sendo frequente a disposição em grupos anteriormente observados (Fig. 12B).

A zona do labirinto, neste estágio da gestação, ocupava a maior parte da placenta. Os mesmos padrões morfológicos nucleares dos dias anteriores eram aqui observados (Fig. 12C). No interior das trabéculas,

numerosos capilares fetais eram evidentes. O aspecto vesiculoso das trabéculas, descrito anteriormente, era observado com freqüência nesta fase da gestação (Fig. 12C).

4.7.2. Microscopia eletrônica de transmissão

Ao microscópio eletrônico, as três camadas trofoblásticas das trabéculas labirínticas mantinham o mesmo padrão morfológico do dia anterior. A espessura dessas camadas, porém, era mais delgada.

A camada I era a mais delgada e repleta de fenestrações entre as células (Fig. 12D).

A camada II era a mais espessa, porém, onde não eram observadas inclusões lipídicas, a espessura era sensivelmente menor (Fig. 12D).

A camada III era caracterizada por finas projeções citoplasmáticas em toda superfície de membrana (Fig. 12D).

As hemácias fetais, neste estágio do desenvolvimento placentário, eram anucleadas, porém mantinham-se volumosas, maiores do que as hemácias maternas (Fig. 12E).

5. Discussão

A análise morfológica da placenta de *Calomys callosus* nos permitiu identificar as diferentes regiões que a constitui, bem como o estudo de seu desenvolvimento ao longo do período gestacional analisado.

A placenta de *Calomys callosus* apresentava-se constituída por: células decíduais, células gigantes, espongiotrofoblasto e células do labirinto que se apoiavam sobre a placa coriônica. Este arranjo morfológico é típico da placenta de outros roedores, como em ratos e camundongos (ZUCKERMAN & HEAD, 1986).

Acompanhando o desenvolvimento placentário, puderam ser observadas modificações tanto na porção fetal da placenta, como também na porção materna.

Para maior clareza e facilidade de compreensão, o desenvolvimento das diferentes regiões da placenta de *Calomys callosus*, será discutido, à seguir, separadamente.

5.1. Decídua

A porção materna da placenta, aos 14 dias de gestação, era uma camada celular relativamente espessa. As células decíduais apresentavam-se compactamente arranjadas e interpostas por células granulosas metriais. Estas células também estavam sempre em localização próxima aos vasos sanguíneos maternos, caracterizando o chamado triângulo mesometrial também designado de glândula metrial (PEEL, 1989).

As células granulosas metriais, assim como em camundongos

(PEEL, 1989), mostravam-se ovóides com núcleo excêntrico, citoplasma repleto de granulações e não mantinham relações juncionais com as células vizinhas. Existem evidências genéticas e imunológicas de que as células granulosas metriais são membros da linhagem de células NK (ZHENG *et al.*, 1991; CROY *et al.*, 1996; HEAD, 1996). Células granulosas metriais são oriundas da medula óssea (PEEL, 1989) e produzem INF γ , IL-1, CSF-1, LIF e TNF α (CROY *et al.*, 1991; CHEN *et al.*, 1993; CROY *et al.*, 1996; CROY *et al.*, 2000) além de apresentarem receptores para IL-2, TNF α e IFN γ (CROY *et al.*, 1991; CHEN *et al.*, 1993; CROY *et al.*, 1996). Estas células, abundantes em regiões perivasculares da decídua durante grande parte da gestação, eram praticamente ausentes no 18^o dia de gestação, porém, ao contrário do que o observado na placenta de outros roedores (CROY *et al.*, 1991), algumas destas células ainda persistiam no 20^o dia de gestação, embora já demonstrassem aspecto degenerativo.

A disposição e aspecto celular da decídua de *Calomys callosus* é semelhante à observada na placenta de outros roedores, conforme descrito por CROY e colaboradores (1991).

Ao longo do período gestacional estudado, poucas mudanças morfológicas na decídua foram observadas. No 18^o dia de gestação, no entanto, as células deciduais organizavam-se em poucas camadas e demonstravam aspecto degenerativo.

Células deciduais apresentam importante papel na contenção da invasividade trofoblástica (KIRBY & BRADBURY, 1965) e na secreção de hormônios, fatores de crescimento, citocinas e peptídeos (GIBORI, 1994; KENNEDY, 1994). Provavelmente, ao final da gestação tais funções não sejam necessariamente essenciais, justificando a involução da decídua aqui relatada ao final da gestação.

5.2. Zona juncional

Aos 14 dias de gestação, a zona juncional de *Calomys callosus*

constituía a maior área da placenta fetal. As células trofoblásticas gigantes, assim como em ratos (JOLLIE, 1965; DAVIES & GLASSER, 1968) organizavam-se na interface da zona juncional com a decídua basal, além de estar circundando o espongiotrofoblasto. Em *Calomys callosus*, células trofoblásticas gigantes, diferentemente do observado em outros roedores, também eram frequentes na interface zona juncional-zona do labirinto.

As células trofoblásticas gigantes possuíam núcleos com cromatina frouxa, o que sugere intensa atividade metabólica. Numerosos espaços, formados entre estas células, apresentavam-se preenchidos por sangue materno extravasado, que de maneira semelhante ao observado em outros roedores (PIJNENBORG *et al.*, 1981), banhava as superfícies livres das células trofoblásticas gigantes.

Por analogia a zona juncional de *Calomys callosus*, assim como em ratos (SOARES *et al.*, 1996), provavelmente seja uma região essencialmente endócrina. Assim, a grande área ocupada por essa região na placenta no 14º dia de gestação, indica importante suporte hormonal da zona juncional nesta fase do desenvolvimento.

Grupos de células do espongiotrofoblasto, na maioria das vezes, estavam circundadas por células trofoblásticas gigantes, embora nem sempre se observava um contato íntimo entre estas células. Segundo FERRO (2000), as células trofoblásticas gigantes atuam como uma barreira protetora do espongiotrofoblasto, fato este que explica a infecção tardia desta população celular quando um animal é inoculado por *Toxoplasma gondii* durante a gestação.

As células da zona juncional de *Calomys callosus*, de maneira semelhante ao observado em ratos (JOLLIE, 1965), persistem durante toda a gestação, apesar de haver um certo grau de degeneração ao final deste período. Provavelmente, as células da zona juncional tenham sua importância diminuída ao final do evento da gestação, sendo a maior área da placenta ocupada, neste momento, pela zona do labirinto, a região de trocas metabólicas da placenta.

5.3. Zona do labirinto

Aos 14 dias de gestação, a zona do labirinto, a principal região de trocas da placenta, ocupava uma área relativamente estreita deste órgão. Esta característica também foi descrita na placenta de ratos e camundongos (TAKATA *et al.*, 1997) e relatada como evento normal da organogênese da placenta de roedores.

À semelhança de outros roedores, esta região da placenta estruturava-se em trabéculas espessas e anastomosadas entre si, formando um arranjo labiríntico.

Três tipos de núcleo eram frequentes nas trabéculas, sugerindo diferentes populações celulares nesta região. Os núcleos maiores, de cromatina frouxa, assemelhavam-se aos núcleos das células trofoblásticas gigantes da zona juncional, embora fossem menores nesta camada da placenta.

Um segundo tipo nuclear encontrado, caracterizava-se por apresentar cromatina frouxa e forma ovalada. Estes núcleos dispunham-se muitos próximos entre si, na parte interna das trabéculas, o que indica que esses núcleos deviam pertencer a uma estrutura de natureza sincicial (FERRAZ, 2001), embora nossos dados de ultraestrutura não confirmem este achado. O terceiro tipo nuclear apresentava características morfológicas típicas de células endoteliais.

No interior das trabéculas, o sangue fetal era constituído, até o 17º dia de gestação, principalmente por células nucleadas. Sobre estas células, vale ressaltar que, provavelmente, são originárias de órgãos hemocitopoéticos primários, uma vez que as células eritrocíticas oriundas da medula óssea penetram na corrente sanguínea já na sua forma anucleada, o reticulócito (BANKS, 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995; GARTNER & HIATT, 1997).

As trabéculas do labirinto de *Calomys callosus*, ao microscópio eletrônico, organizavam-se em três camadas trofoblásticas que envolviam capilares fetais. Esta disposição trofoblástica também é

observada na placenta de outros roedores (ENDERS, 1965; TAKATA *et al.*, 1997), e pôde ser classificada como hemotricorial (ENDERS, 1965).

Os capilares fetais, via de regra, estavam estreitamente aderidos à lâmina basal do trofoblasto. Este padrão de formação da trabécula labiríntica difere sobremaneira do observado em capivara, onde o trofoblasto e os capilares fetais estão interpostos por diferentes tipos celulares como células mesenquimais e células semelhantes a macrófagos, além de apresentar quantidades variáveis de matriz extracelular representada por componentes fibroso e amorfo (FERRAZ, 2001).

As três camadas trofoblásticas, semelhantemente a ratos e camundongos (TAKATA *et al.*, 1997), foram classificadas como camadas I, II, III, partindo da periferia da trabécula em direção ao capilar fetal.

A natureza absorptiva da camada trofoblástica I pôde ser inferida através das características morfológicas apresentadas por esta população celular. Projeções citoplasmáticas filiformes eram banhadas por sangue materno. Além disso, flagrantemente de vesículas de macropinocitose eram observadas com certa frequência na superfície livre desta camada celular.

Nossos resultados ultra-estruturais também mostraram a presença de numerosas fenestrações na camada I, reforçando sua frágil função como barreira. Assim, provavelmente, esta camada seja aqui também absorptiva. Esta característica também foi descrita por TAKATA *et al.* (1997) na placenta de ratos e camundongos. Segundo TAKATA *et al.* (1997) a formação de fenestrações no citoplasma da camada I permite o livre acesso dos constituintes do sangue materno ao espaço entre as camadas I e II. Conseqüentemente, a camada I, provavelmente, não representa uma barreira na permeabilidade placentária.

Segundo TAKATA *et al.* (1997) durante o 14º e 15º dias de gestação em hamsters, a camada trofoblástica I torna-se fina e descontínua, apresentando numerosas fenestrações em seu citoplasma. Essas descrições são coerentes com os nossos resultados na placenta de

Calomys callosus e ainda sugerem estreita relação filogenética entre a placenta de cricetídeos.

Na camada I observamos algumas vezes células grandes, de núcleo eucromático. Flagrantes de fagocitose de elementos sanguíneos maternos por estas células foram observados e documentados neste trabalho. TAKATA *et al.* (1997) descreve células semelhantes na placenta de hamsters e as classifica como células gigantes labirínticas. Este autor, no entanto, não faz referência à presença de atividade fagocitária nestas células.

A camada trofoblástica intermediária ou camada II era a mais espessa das três camadas. Segundo METZ *et al.* (1978), a camada trofoblástica II serve como barreira primária no lado materno da barreira placentária. De acordo com esse autor, quando marcadores são administrados via compartimento materno da placenta de ratos, estes rapidamente penetram na camada trofoblástica I e difundem para o espaço entre as camadas I e II, mas não passam pela camada II. O trofoblasto celular (camada I) possui fenestrações que o torna permeável aos marcadores, mas a camada trofoblástica II bloqueia efetivamente estas substâncias (TAKATA *et al.*, 1997). Em nossos resultados, ultra-estruturalmente, foi possível observar espaços consideráveis entre as camadas I e II e também a presença de substâncias, provavelmente, constituintes do sangue materno, nestes espaços.

Outra característica marcante da camada II era a presença de vesículas de pinocitose na sua superfície materna, característica de células que realizam intenso transporte molecular, provavelmente mediado por receptores.

Observamos ainda a presença de inclusões lipídicas e grânulos de glicogênio no citoplasma da camada trofoblástica II, representando, provavelmente, a reserva energética da barreira placentária de *Calomys callosus*. Em ratos, estas reservas também foram relatadas (TAKATA *et al.*, 1997), no entanto, não eram tão abundantes quanto ao

aqui relatado.

A camada trofoblástica III de *Calomys callosus* também era espessa. A sua superfície de contato com a camada II era contínua e mostrava estreita proximidade, sugerindo a presença de junções comunicantes entre estas camadas, embora não tenhamos documentado tais junções. Estudos de criofratura da placenta de ratos (METZ *et al.*, 1976a), demonstraram a presença dessas junções comunicantes entre as camadas trofoblásticas II e III. Segundo METZ *et al.* (1976a), junções comunicantes também são observadas em placentas hemocoriais de outras espécies, quando múltiplas camadas trofoblásticas são formadas como na placenta hemodicorial de coelho e na placenta hemotricorial de roedores (METZ *et al.*, 1976b).

Em nossos resultados, assim como em ratos (TAKATA *et al.*, 1997), raramente eram observadas vesículas de endocitose na camada III, sugerindo baixa atividade endocítica nesta camada.

Provavelmente o transporte molecular nesta camada seja realizado principalmente por junções comunicantes. Em ratos, TAKATA *et al.* (1997) relata que o transporte de glicose entre as camadas II e III provavelmente seja realizado por junções comunicantes, mediado principalmente pela conexina 26.

Em *Calomys callosus*, o endotélio dos capilares da placenta era do tipo fenestrado. Em ratos, o endotélio placentário também é do tipo fenestrado (METZ *et al.*, 1976a; JOLLIE, 1964), e os poros formados possuem até 100 nanômetros de diâmetro. Capilares fenestrados geralmente são encontrados em tecidos onde ocorrem intensas trocas de substâncias entre as células do tecido e o sangue, como no rim, intestino e glândulas endócrinas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995). Obviamente, a presença de poros no endotélio placentário, pode contribuir para alta permeabilidade nos capilares fetais da placenta de *Calomys callosus*.

Outra característica marcante no labirinto da placenta de *Calomys callosus* era a espessura da barreira placentária durante o

período gestacional. Segundo FERRO (2000), na placenta a termo de *Calomys callosus*, a espessura das camadas trofoblásticas é sensivelmente menor do que na placenta de 15 dias. Nossos resultados, durante o período gestacional estudado, confirmam esta descrição. No entanto, vale ressaltar que, em uma mesma amostra, a espessura das camadas trofoblásticas podia variar sensivelmente, de acordo com a região analisada. Porém, apesar de a espessura das camadas não ser uniforme, num dado momento da gestação, a diminuição da espessura da barreira placentária durante a gestação pôde ser inferida quando eram observadas diferentes amostras, em diferentes idades gestacionais.

6. Conclusões

- Decídua e zona juncional apresentavam aspectos de involução durante o período gestacional analisado.
- A zona do labirinto apresentava alterações progressivas durante o período gestacional analisado, ocupando a maior parte da placenta a termo (20 dias).
- As células trofoblásticas da zona do labirinto de *Calomys callosus* organizavam-se em três camadas, sendo a placenta, portanto, classificada como hemotricorial.
- A camada trofoblástica I apresentava numerosas fenestrações.
- A camada trofoblástica II apresentava características ultraestruturais típicas de células que realizam intenso transporte molecular.
- A espessura da barreira placentária era variável numa mesma amostra.
- A espessura da barreira placentária na placenta a termo (20 dias) era menor do que aos 14 dias de gestação.
- As três camadas trofoblásticas exibiam variação em espessura em uma mesma amostra.
- As camadas trofoblásticas I e III exibiam maior variação em espessura entre 14 e 20 dias de gestação, sendo a camada II mais regular durante o período analisado.

DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

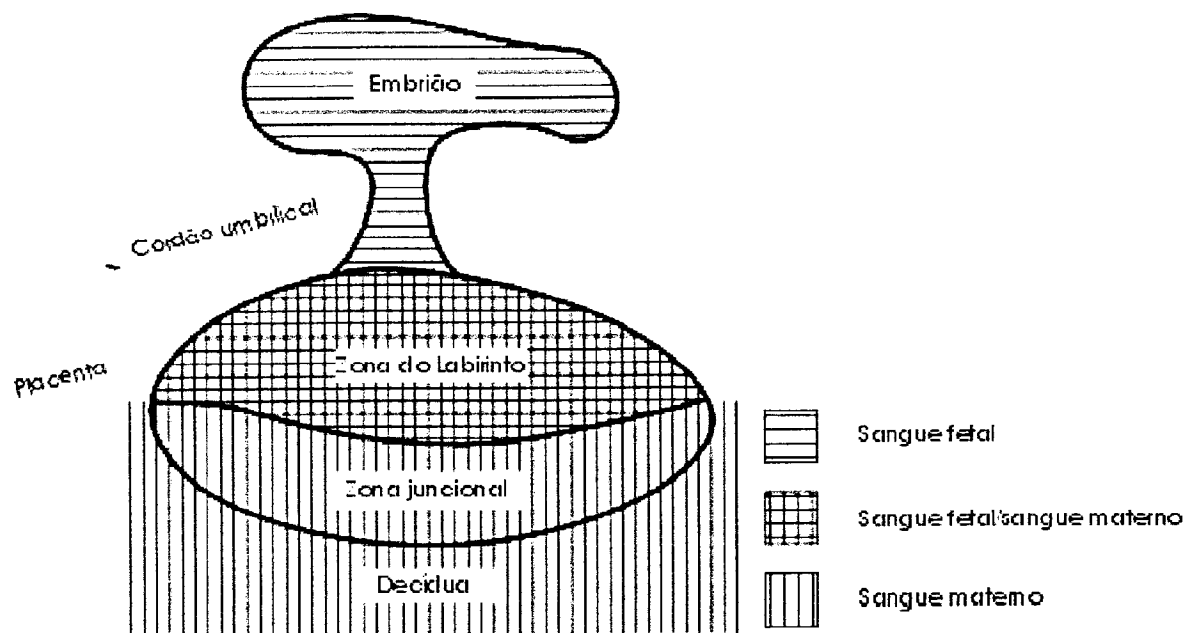
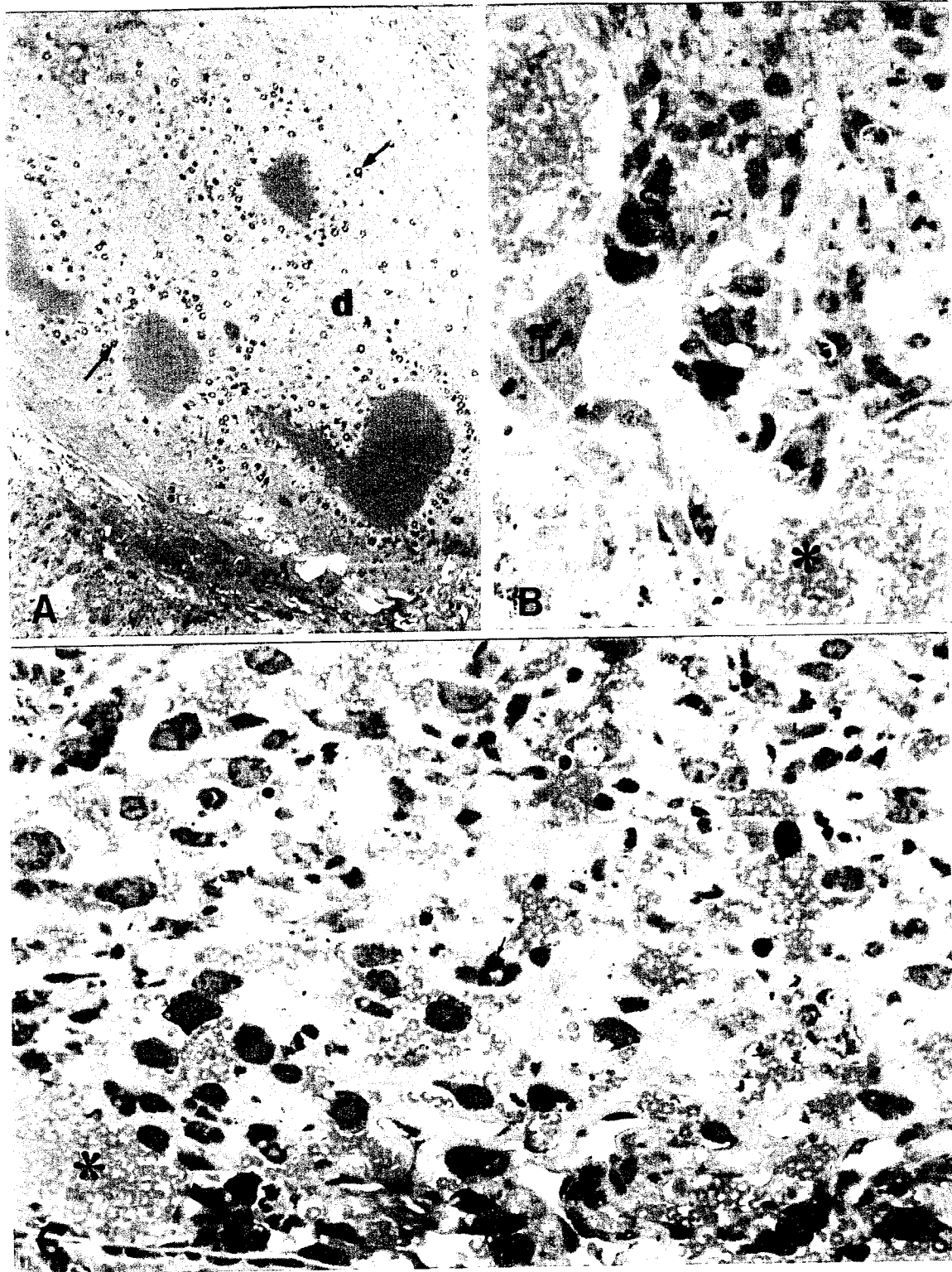
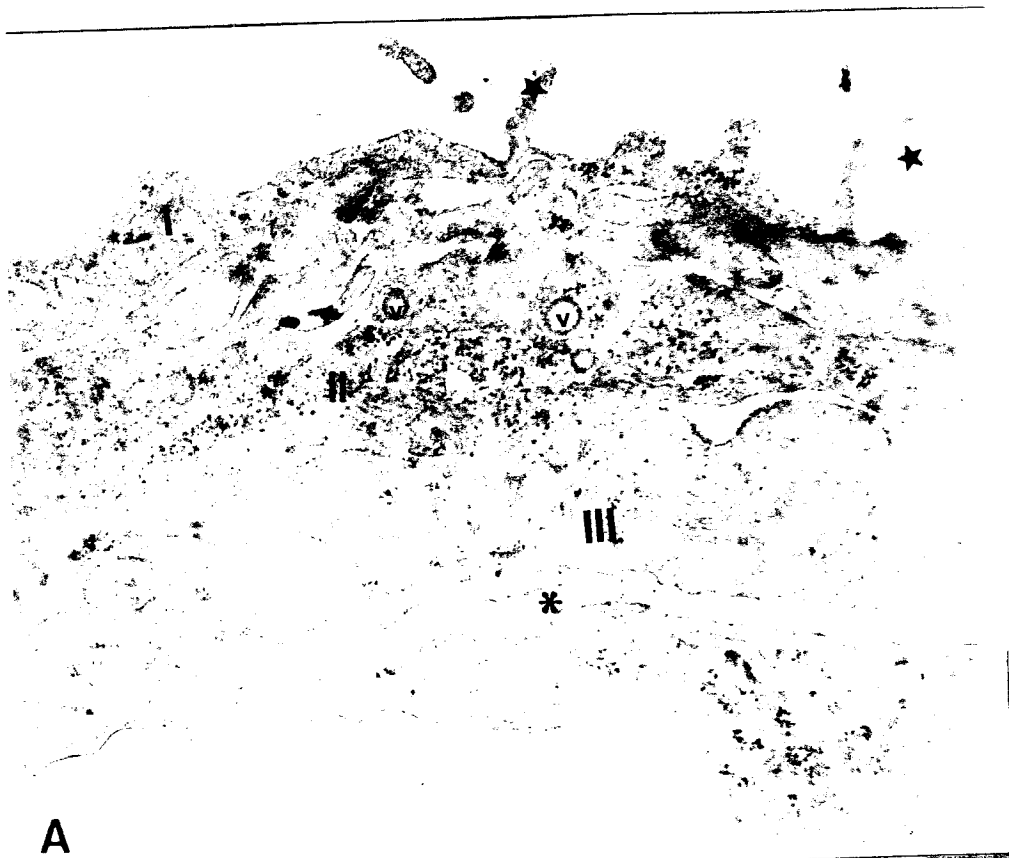


FIG. 1 Esquema simplificado da placenta de roedores mostrando o suprimento de sangue materno e fetal em suas diferentes porções

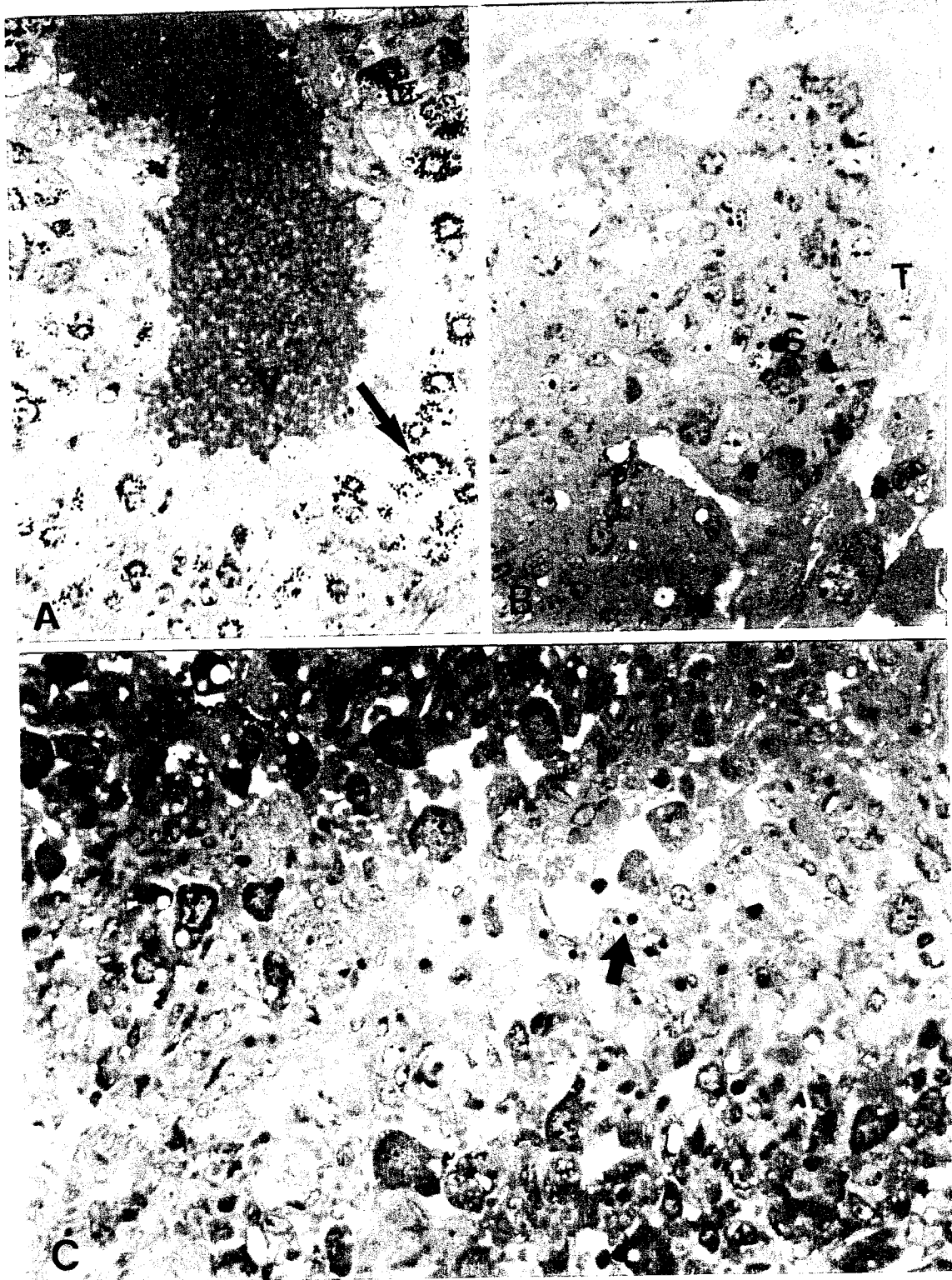




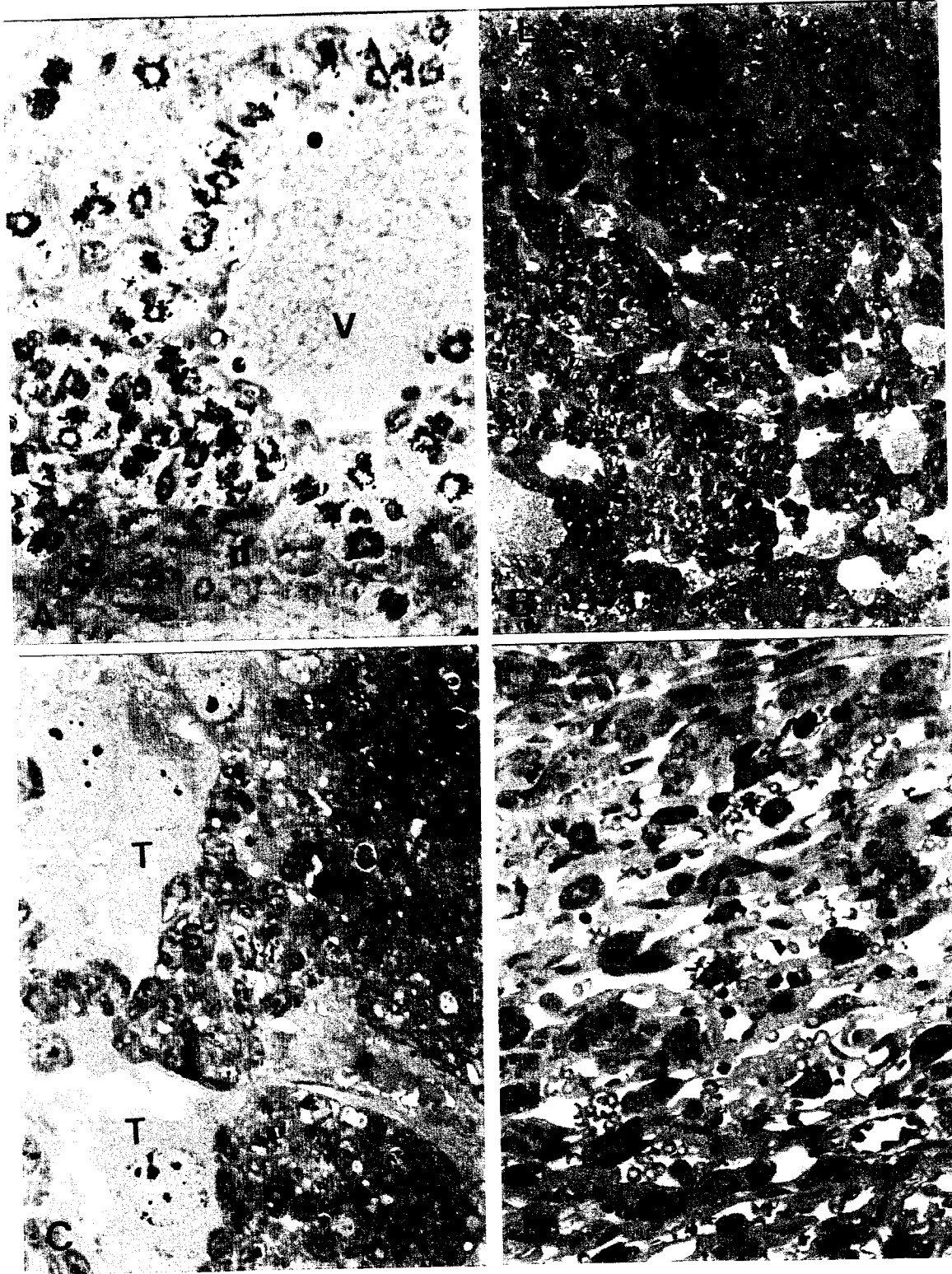
A

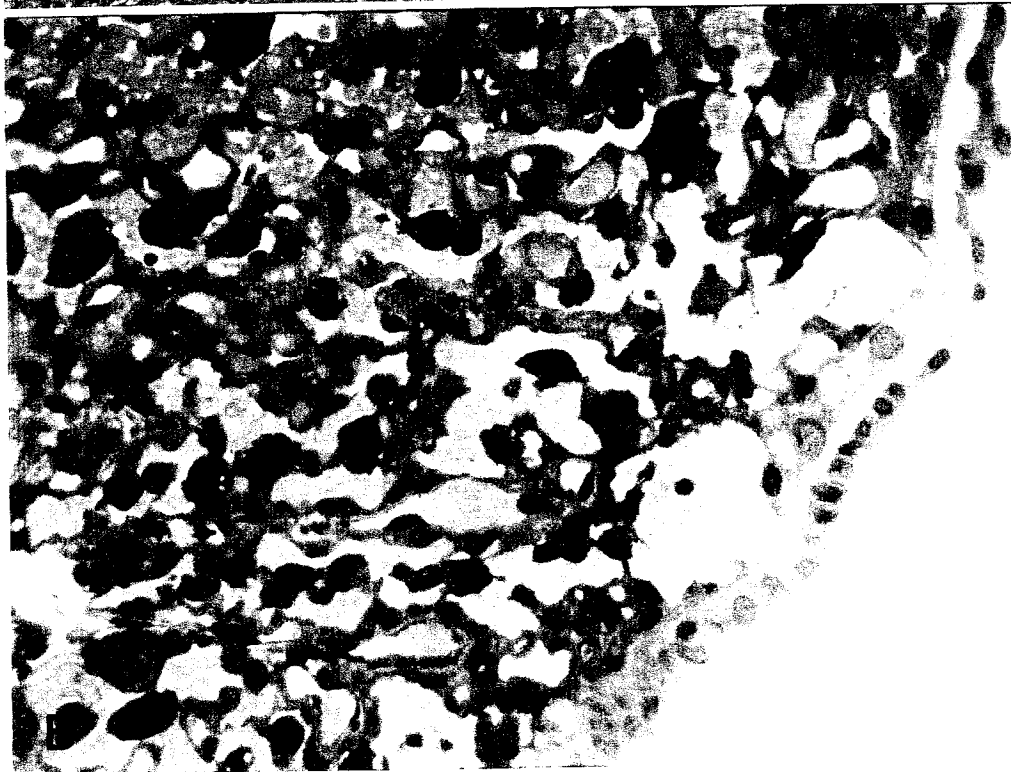
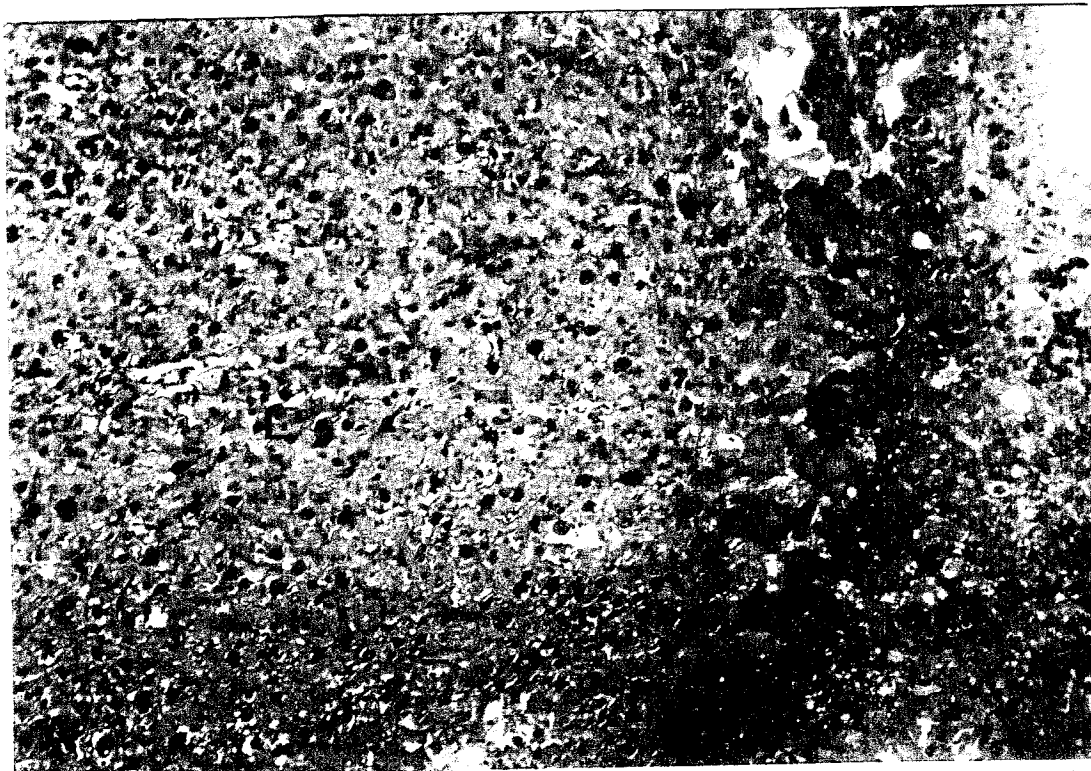


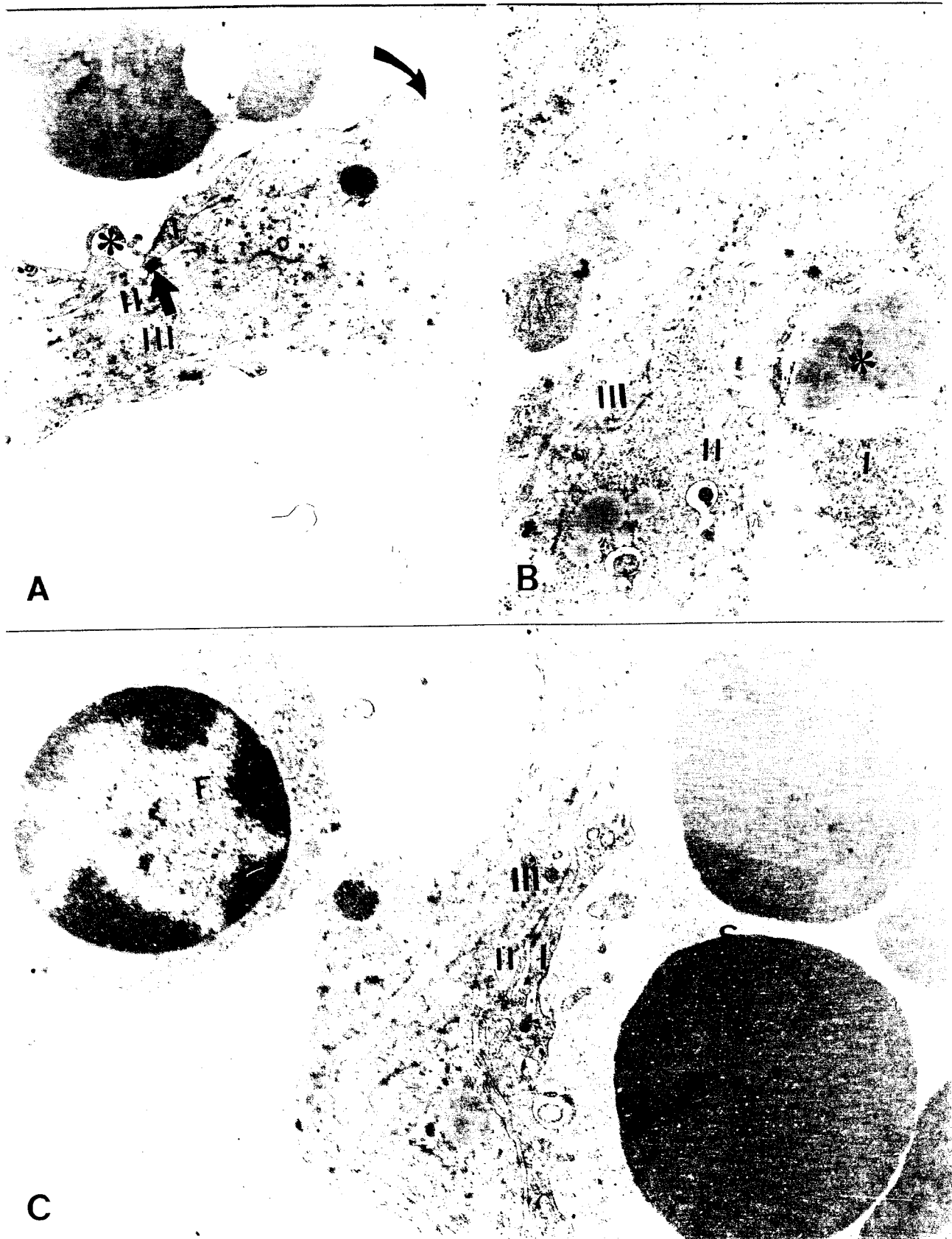
B

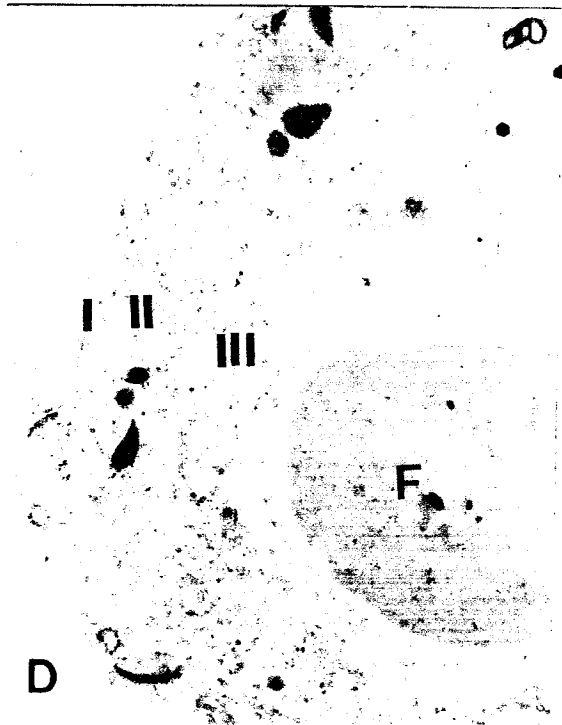




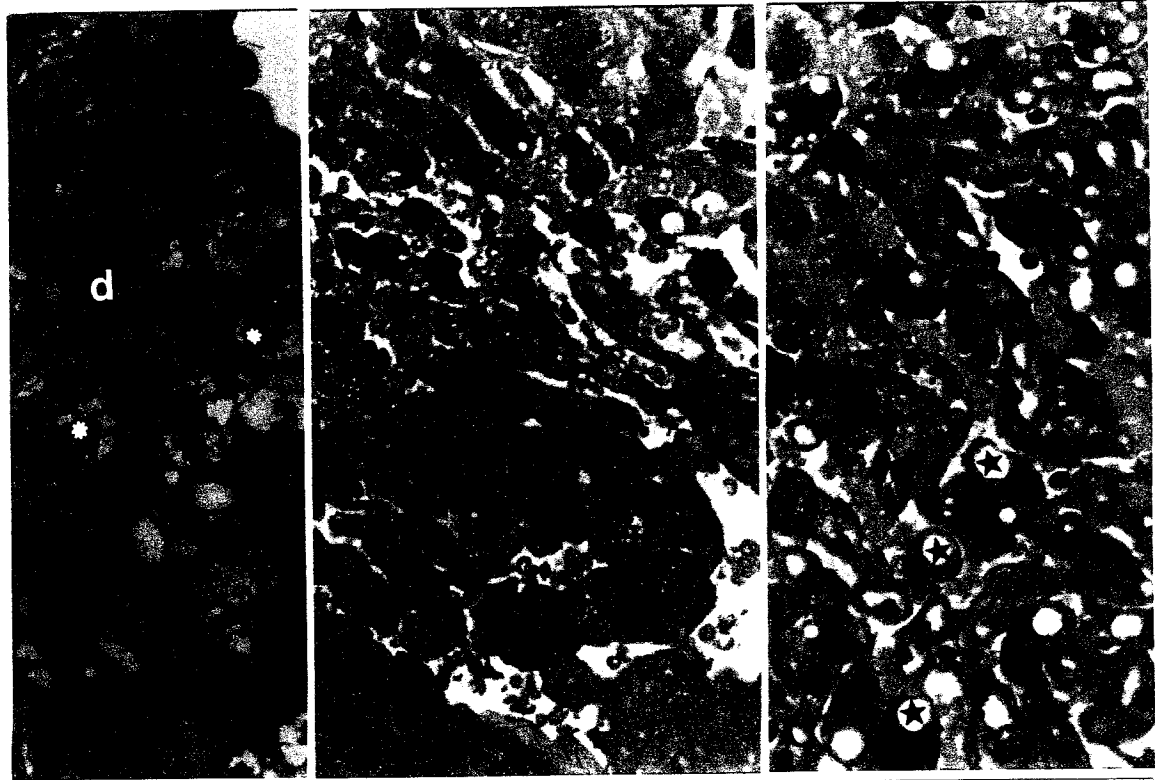












7. Referências bibliográficas

ABRAHAMSOHN,P.A. Ultrastructural study of the mouse antimesometrial decidua. **Anat. Embryol.**, **166**: 263-274, 1983.

BANKS, W. **Histologia Veterinária Aplicada**.2ª edição. Ed. Manole Ltda. S.P. p. 188-190. 1992.

BEVILACQUA,E.M.A.F.; ABRAHAMSOHN,P.A. Ultrastructure of trophoblast giant cell transformation during the invasive stage of implantation of the mouse embryo. **J. Morphol.** **198**: 341-51, 1988.

BEVILACQUA,E.M.A.F.; FARIA, M.R.; ABRAHAMSOHN,P.A. Growth of mouse ectoplacental cone cells in subcutaneous tissues: development of placental-like cells. **American J. of anatomy.** **192 (4)**:382-399, 1991.

BILLINGTON,W.D. Biology of the trophoblast. **Adv. Reprod. Physiol.**, **5**: 27-66, 1971.

CAMPBELL, W.J.; DEB,S.; KWOK,S.C; JOSLIN,J.A; SOARES,M.J. Differential expression of placental lactogen II and prolactin like-protein- A the rat chorioallantoic placenta. **Endocrinol.**, **125(3)**: 1505-74, 1989.

CHEN, H.L.; YELAVARTHI, K.K.; HUNT, J.S. Identification of transforming growth factor β 1 mRNA in virgin and pregnant rat uterine by in situ hybridization. **J. Reprod. Immunol.**, **25(3)**: 221-233, 1993.

COPP, A. J. Interaction between inner cell mass and trophectoderm. II. The fate the polar trophectoderm. **J. Embryo. Exp. Morphol.**, **51**: 109-120,1979.

CROY, B.A.; GUILBERT, L.J.; BROWNE, M.A.; GOUGH, N.M.; STINCHCO, M.B. Characterization of cytochine production by the metrial gland and granulated metrial gland cells. **J. Reprod. Immunol.**, **19(2)**: 149-166, 1991.

CROY, B.A.; LUROSS, J.A.; GUIMOND, M.J.; HUNT, J.S. Uterine natural killer cells: insights into lineage relationships and functions from studies of pregnancies in mutant and transgenic mice. **Nat. Immunol.**, **15(1)**: 7-21, 1996.

CROY, B.A.; ASHKAR, A.A.; GREENWOOD, J.A. Can murine uterine natural killer cells give insights into the pathogenesis of preeclampsia? **J. Soc. Investig., 7(1):** 12-20, 2000.

DAVIES, J.; GLASSER, S.R.; Histological and fine structural observation on the rat. Part I. Organization of the normal placenta. **Acta. Anat., 69(4):** 542-574, 1968.

ENDERS, A.C. A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. **Am. J. Anat., 116(1):** 29-68, 1965.

ENDERS, A.C.; SCHLAFKE, S. A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. **Amer. J. Anat., 120:** 185-226, 1967.

ENDERS, A.C., SCHLAFKE, S. Cytological aspects of trophoblast-uterine interaction in early implantation. **Amer. J. Anat., 125:** 1-30, 1969.

ENDERS, A. C.; HENDRICKX, A.G.; SCHLAFKE, S. Implantation in the rhesus monkey initial penetration of endometrium. **Amer. J. Anat., 167:** 275-298, 1983.

ENDERS, A.C.; BLANKENSHIP, T.N.; LANTZ, K.C, ENDERS, S.S. Morphological variation in the internal areas of chorioallantoic placenta. **A review. Trophoblast. Res., 12(1):** 1-19, 1998.

FAVORETO Jr, S.; FERRO, E.A.V.; CLEMENTE, D.; SILVA, D.A.; MINEO, J.R. Experimental infections of *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae) by *Toxoplasma gondii*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, **93(1)**: 103-107, 1998.

FERRAZ, R.H.S. **Estudo macro e microscópico da placenta a termo de capivara (*Hidrochaeris hidrochaeris* CARLETON, M.D, 1984)**. São Paulo, 2001. p.87 (Tese de doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo).

FERRO, E.A.V. **Estudo da interface materno-embriônica em etapas iniciais da implantação em *Calomys callosus***. São Paulo, 1991. 130p. (Dissertação de mestrado, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).

FERRO, E.A.V.; BEVILACQUA, E.M.A.F. Trophoblastic invasion of the uterine epithelium in *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae). **J. Morphol.**, **221(1)**: 139-52, 1994.

FERRO, E.A.V., BEVILACQUA, E.M.A.F.; FAVORETO-JUNIOR, S.; SILVA, D.A.; MORTARA, R.; MINEO, J.R. *Calomys callosus* (Rodentia, Cricetidae) trophoblast cells as host to *Toxoplasma gondii* in early pregnancy. **Parasitol. Res.** **85 (8-9)**: 647-654, 1999.

FERRO, E.A.V. **Cinética da infecção congênita de células trofoblásticas por *Toxoplasma gondii* na placenta de *Calomys callosus***. São Paulo, 2000. 147 p. (Tese de Doutorado, Instituto de Ciências IBiomédicas da Universidade de São Paulo).

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de Histologia**. p. 191. Ed. Guanabara Koogan S.A. R.J. 1997.

GIBORI, G. The decidual hormones and their role in pregnancy recognition. In: GLASSER, S.R.; MULHOLLAND, J.; PSYCHOYOS, A.; eds., **Endocrinology of embryo-Endometrium interactions**. New York, Plenum, p. 217-222. 1994.

HEAD, J.R. Uterine natural killers cells during pregnancy in rodents. **Nat. Immunol.**, 15(1): 7-21, 1996.

HEDLUND,K.; NILSSON,O; REINUS,S.; AMAN,G. Attachment reaction of the hamster, guinea-pig, rabbit and mink. **J. Reprod. Fert.**, **29**: 131-132, 1972.

ILGREN,E.B. Review article: Control of trophoblast growth. **Placenta**, **4**: 307-328, 1983.

JOHNSON, K.M.; MACKENZIE,R.B.; WEBB,P.A. Chronic infection of rodents by Machupo vírus. **Science**, **150**: 1618-1619, 1965.

JOLLIE, W.P. Fine structural changes in placental labyrinth of the rat with increasing gestacional age. *J. Ultrastruct. Res.* **10**: 27-47, 1964.

JOLLIE, W.P. Fine structural changes in the junctional zone of the rat placenta with increasing gestacional age. *J. Ultrastruct. Res.*, **12(4)**: 420-438, 1965.

JOLLIE, W.P.; CRAIG, S. The fine structure of placenta junctional zone cells during proteged pregnancy in rats. *Acta. Anat.*, **105(4)**: 386-400, 1979.

JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. P. 209-213. 8ª edição. Ed. Guanabara Koogan S.A..R.J. 1995.

JUSTINES, G.; JOHNSON, k.m. Immune tolerance in *Calomys callosus* infected with Machupo vírus. *Nature*, **222**: 1090- 1091, 1969.

JUSTINES, G.; JOHNSON, K.M. Observations on the laboratory breeding of the cricetidade rodent *Calomys callosus*. *Lab. Animal. Core*, **20**: 57-60, 1970.

KENEDY, T.G. Involvement of local mediantions in blastocyst implantation. In: GLASSER, S.R.; MULHOLLAND, J.; PSYCHOYOS, A.; eds., **Endocrinology of embryo-Endometrium interactions**. New York, Plenum, p. 217-222. 1994.

KIRBY, D.R.S.; BRADBURY, S. The hemochorial of mouse placenta. **Anat. Rec. 152(3):** 279-282. 1965.

KREHBIEL, R.H. Cytological studies of the decidual reaction in the rat during pregnancy and in the production of deciduomata. **Physiol. Zool., 10:** 212-238, 1937.

MELLO, D.A.; Note on breeding of *Calomys expulsus*, Lund, 1841 (Rodentia, Cricetidae) under laboratory conditions. **Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 10(2):** 107, 1977.

MELLO, D.A.. Biology of *Calomys callosus* (Ranger, 1830) under conditions laboratory (Rodentia, Cricetidae). **Rev. Bras. Biol., 38(4):** 807-811, 1978.

MELLO, D.A. Studies on reproduction and longevity of *Calomys callosus* under laboratory conditions (Rodentia, Cricetidae). **Rev. Bras. Biol.; 41(4):** 841-843, 1981.

METZ, J.; HEIRINCH, D.; FORSSMANN, WG. Ultrastructure of the labyrinth in the rat full-term placenta. **Anat. Embryol. 149:** 123-148, 1976 a.

METZ, J.; HEIRINCH, D.; FORSSMANN, WG. Gap junctions in hemodichorial and hemotrichorial placenta. **Cell tissue Res. 171:** 305-315, 1976 b.

METZ, J.; AOKI, A.; FORSSMANN, W.G. Studies on the ultrastructure and permeability of the hemotrichorial placenta. **Cell tissue Res.** **192**: 391-407, 1978.

MOSSMAN, H.M. **Vertebrate fetal membranes**. New Brusnowich Rutgeers University Press, 1937.

MOSSMAN, H.M. Lagomorpha and Rodentia. In: Mossman, H. W. **Vertebrate fetal membranes**. New Jersey: Rutgers University, p. 228, 1987.

MUNTENER, M.; HSU, Y. C. Development of trophoblast and placenta of the mouse. **Acta. Anat.**, **98**:241-252, 1977.

NALBANDOV, A.V. Endocrine control of Implantation, In: **The biology of the blastocyst**. Ed. R.J. Blandau, Chicago, University of Chicago Press, p. 383- 409 , 1971.

PEEL, S.; BULMER, D. Proliferation and differentiation of trophoblast in the establishment of the rat chorioallantoic placenta. **J. Anat.**, **124(5)**: 615-687, 1977.

PEEL, S. Granulated metrial gland cells. **Adv. Anat. Embryol.** **115(1)**: 1-112, 1989.

PETER, F.; KARIMI, Y.; ALMEIDA, A. Un nouveau rongeur de laboratoire, le cricétidé *Calomys callosus*. **G.R Acad. S.C.** Paris, 265: 1974-1976, 1967.

PIJNENBORG, R.; ROBERTSON, W.B.; BROSENS, I. Review article: trofoblast invasion and the establishment of hemochorial placentation in man and laboratory animals. **Placenta**. **2(1)**: 71-92, 1981.

PSYCHOYOS, A. Permeabilité capillaire et de vascularisation utérine. **Comp. Rend. Acad. Sci. Paris**. **252**: 1515-1517, 1961.

RANGEL, N.M. **Fundamentos de Embriologia Geral**. Guanabara Googan. 1ª edição. Rio de Janeiro. 125p, 1974

RASMUSSEN, C.A.; OKWIG, K.E.; VELLUCI, S.; SOARES, M.J. Dual expression of prolactin related protein decidua and trophoblast tissue pregnancy in rats. **Biol. Reprod.**, **56(3)**: 647-654, 1997.

RIBEIRO, R.D. Novo reservatório do *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Bras. Biol**, **33**: 429-437, 1973.

ROBY, K.F.; SOARES, M.J.; Trophoblast cell differentiation and organization: role of fetal and ovarian signals. **Placenta**, **15(5)**: 529-545, 1993.

ROSSANT, J.; TAMURA-LIS, W. Effect of culture conditions on diploide giant cell transformation in post implantation mouse trophoblast. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, **62**:217-227, 1981.

ROSSANT, J.; CROY, B.A. Genetic identifications of tissue of origin of cellular populations within the mouse placenta. **J. Embryo. Exp. Morphol.**, **86**:177-189, 1985.

SALOMON, D.; SHERMAN, M.I. Implantation and invasives of mouse blastocysts on uterine monolayers. **Exp. Cell. Res.**, **90**: 261-268, 1975.

SCHLAFKES, S.; ENDERS, A.C. Cellular basis of interaction between trophoblast and uterus at implantation. **Biol. Reprod.**, **12**: 41-65, 1975.

SHI, F.; SOARES, M.J.; AVERY, M.; LIU, F. Permeability and metabolic properties of a trophoblast cell line (HRP-1) derived from normal rat placenta. **Exp. Cell. Research**, **234**: 147-159, 1997.

SNELL, G.G.; STEVENS, L. Early embryology. In: **Biology of the laboratory mouse**. Ed. E.L. Green, New York, Mc Graw Hill, 1966, p.205-245.

SOARES, M.J. Developmental changes in the intraplacental distribution of lactogen and alkaline phosphatase in the rat. **J. Reprod. Fertil.**, **79**: 335-341, 1987.

SOARES, M.J.; CHAPMAN, B.M. RASMUSSEN, C.A.; KAMEI, T. Differentiation of trophoblast endocrine cells. **Placenta**, **15(5-6)**: 287-289, 1996.

STEVENS, D.H. Interspecies differences in the culture and function of trophoblast. In. LOKE, Y.W.I. WHITE, A. **Biology of trophoblast**. Amsterdam: Elsevier, p. 111-136, 1983.

TAKATA, K.; FUJIKURA, K.; SHIN, B.C. Ultrastructure of rodent placental labyrinth: a site of barrier and transport. **J. Rep. Development**. **43(1)**: 1-17, 1997.

WELSH, A.O ; ENDERS, A.C; Chorioallantoic placenta formation in the rat: Angiogenesis and maternal blood circulation in the mesometrial region of the implantation chamber prior to the placenta formation. **Am. J. Anat.**, **192(4)**: 347-365, 1991.

ZHENG, L.M.; OJCIUS, D.M.; YOUNG, J.D. Role of granulated metrial gland cells in the immunology of pregnancy. **Am. J. Reprod. Immunol.**, **25(2)**: 72-76, 1991.

ZUCKERMAN, F.A.; HEAD, J.R. Isolation and characterization of trophoblast from murine placenta. **Placenta**. **7(4)**: 349-364, 1986.